

INFLUÊNCIA DA DIGESTIBILIDADE DA DIETA NO MICROBIOMA INTESTINAL DE CÃES

GISELI R. NATALE¹, EDUARDA L. FERNANDES¹; RENATA B. M. S. SOUZA¹; LAIANE S. LIMA¹; JULIA S. RODRIGUES¹; KARINA K. MELOTTO¹; SIMONE G. OLIVEIRA¹; ANANDA P. FÉLIX¹.

¹Universidade Federal do Paraná, UFPR, Campus de Ciências Agrárias, Curitiba, PR, Brasil.
Contato: giselirnatale@ufpr.br / Apresentador: GISELI R. NATALE

Resumo: Objetivou-se avaliar os efeitos de dietas de diferentes digestibilidades sobre o microbioma intestinal de cães adultos. Oito cães adultos da raça Beagle foram alimentados com quatro dietas secas extrusadas, sendo duas dietas consideradas de baixa e duas de alta digestibilidade. Foram realizadas análises dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes e microbiota fecal por sequenciamento do gene 16S rRNA. Houve redução nos índices de riqueza e diversidade (Chao1 e Shannon), em cães alimentados com dietas de baixa digestibilidade ($P < 0,05$). A β -diversidade mostrou clara diferenciação no perfil do microbioma intestinal de cães alimentados com dietas de alta e baixa digestibilidade ($P < 0,05$). Dietas de alta digestibilidade resultaram no aumento de *Blautia*, *Allobaculum*, *Rombutsia*, *Megamonas*, *Clostridium* e *Faecalibacterium*, e dietas de baixa digestibilidade resultaram no aumento de *Lactococcus*, *Lactobacillus* e *Streptococcus* ($P < 0,05$) nas fezes dos animais. Conclui-se que dietas com menor digestibilidade podem resultar em alterações sugestivas de disbiose em cães.

Palavras-Chaves: Alfa-diversidade; funcionalidade intestinal; microbiota; ração

INFLUENCE OF DIET DIGESTIBILITY ON INTESTINAL MICROBIOME OF DOGS

Abstract: We aimed to evaluate the effects of diets of different digestibility on the gut microbiome of adult dogs. Eight adult Beagle dogs were fed four dry extruded diets, two considered low and two highly digestible. Analyses of apparent digestibility coefficients (ADC) of nutrients and fecal microbiota by 16S rRNA gene sequencing were performed. There was a reduction in richness and diversity indexes (Chao1 and Shannon), in dogs fed the low-digestible diets ($P < 0.05$). β -diversity showed a clear differentiation in the gut microbiome profile of dogs fed high- and low-digestible diets ($P < 0.05$). High-digestible diets resulted in increased *Blautia*, *Allobaculum*, *Rombutsia*, *Megamonas*, *Clostridium*, and *Faecalibacterium*, and low-digestible diets resulted in increased *Lactococcus*, *Lactobacillus*, and *Streptococcus* ($P < 0.05$) in the feces of the animals. It is concluded that diets with lower digestibility may result in changes suggestive of dysbiosis in dogs.

Keywords: Gut functionality; microbiota; alpha-diversity; dog food

Introdução: O microbioma intestinal, fundamental para a imunidade, é formado principalmente por bactérias (PILLA *et al.*, 2021). A diversidade da microbiota e o aumento ou redução de gêneros específicos de bactérias são considerados biomarcadores de funcionalidade intestinal em cães (ALSHAWAQFEH *et al.*, 2017). Fatores como a composição e digestibilidade da dieta também influenciam na eubiose da microbiota intestinal (MORI *et al.*, 2019; FÉLIX *et al.*, 2022). Dietas de baixa digestibilidade podem implicar no crescimento de bactérias associadas à disbiose, resultando inclusive na redução da diversidade bacteriana intestinal (PILLA *et al.*, 2021). Nesse sentido, dietas de alta digestibilidade têm potencial uso para promoção e estabelecimento de eubiose em cães. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de dietas de diferentes digestibilidades sobre o microbioma intestinal de cães, com foco nos gêneros de bactérias reconhecidas como biomarcadores de eubiose.

Material e Métodos: Foram utilizados 8 cães adultos da raça Beagle, sendo 4 machos e 4 fêmeas, com peso de $10,2 \pm 1,2$ kg, e idade de 5-6 anos. Foram feitos quatro ensaios de digestibilidade e microbiota fecal entre 2020 e 2021. Os ensaios consistiram na avaliação de quatro dietas secas extrusadas para cães adultos, com composições químicas e ingredientes semelhantes, porém com coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) considerados baixos ($n=2$ dietas): média = CDAMS: $75,7 \pm 0,1\%$ e CDAPB: $79,8 \pm 0,3\%$ ou altos ($n=2$ dietas): média = CDAMS: $84,1 \pm 0,3\%$ e CDAPB: $87,9 \pm 0,4\%$. Para os ensaios de digestibilidade, o período de adaptação às dietas foi de 15 dias, seguidos de 5 dias de coleta total de fezes (AAFCA, 2016). Foram analisados na dieta e fezes as concentrações de MS, PB, extrato etéreo em hidrólise ácida (EEHA), matéria mineral (MM) e energia bruta (EB), segundo a AOAC (1995). Ao final do período de coleta (20º dia), aproximadamente 2 g de fezes frescas foram coletadas para as análises de microbiota, por meio do sequenciamento do gene 16S rRNA. A abundância relativa dos gêneros bacterianos foram comparados entre as dietas de alta e baixa digestibilidade pela análise discriminante linear do tamanho do efeito (LEfSe), com valor de P ajustado $< 0,05$. A β -diversidade foi representada por meio da análise de coordenadas principais (PCoA), utilizando a dissimilaridade de Bray-Curtis ($P < 0,05$, ANOSIN).

Resultado e Discussão: Os cães alimentados com dietas de baixa digestibilidade apresentaram redução nos índices de Chao1 e Shannon, indicando redução da riqueza e diversidade bacteriana ($P < 0,05$), resultado que pode estar associado a disbiose (FÉLIX *et al.*, 2022). Estudos de Mori *et al.* (2019) comparando a microbiota fecal de cães alimentados com dietas de diferentes composições químicas e, conseqüentemente, diferentes digestibilidades também encontraram alterações na composição da microbiota. Dentre os gêneros bacterianos identificados nas fezes dos cães, foi encontrado que dietas de alta digestibilidade resultaram no aumento de *Blautia*, *Allobaculum*, *Rombutsia*, *Megamonas*, *Clostridium* e *Faecalibacterium* ($P < 0,05$, Figura 1). Esses gêneros são reconhecidos como importantes para a funcionalidade intestinal de cães (ALSHAWAQFEH *et al.*, 2017), exceto pelos gêneros com espécies com funções discrepantes como o *Clostridium hiranonis*

e *Clostridium difficile* (Bermingham *et al.*, 2019). Ainda, dietas de baixa digestibilidade resultaram em aumento de *Lactococcus*, *Lactobacillus* e *Streptococcus* ($P < 0,05$, Figura 1). Esses gêneros não estão associados necessariamente à eubiose ou disbiose em cães (FÉLIX *et al.*, 2022). Por outro lado, o gênero *Streptococcus* é uma bactéria proteolítica, cujo aumento é relacionado à disbiose (ALSHAWAQFEH *et al.*, 2017). A análise da β -diversidade mostrou diferença no perfil do microbioma intestinal de cães alimentados com dietas de alta e baixa digestibilidade ($P < 0,05$, Figura 2), sugerindo que a microbiota é fortemente influenciada pela digestibilidade das dietas.

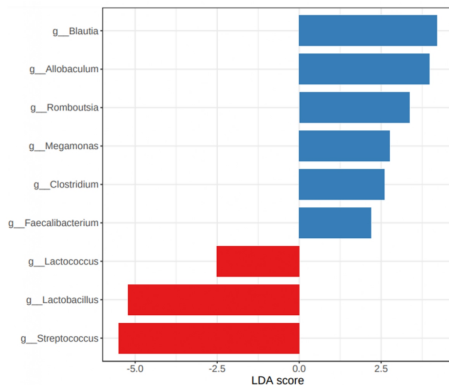


Figura 1. Análise discriminante linear do tamanho do efeito (LEfSe) dos gêneros de bactérias presentes nas fezes de cães alimentados com dietas de alta ou baixa digestibilidade.

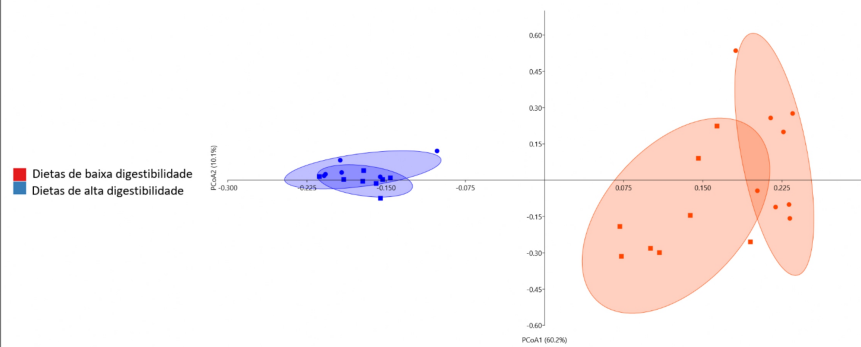


Figura 2. Análise das coordenadas principais (PCoA) entre cães consumindo dietas de alta (●dieta A ■dieta B) ou baixa (●dieta A ■dieta B) digestibilidade.

Conclusão: Dietas com menor digestibilidade podem resultar em alterações na microbiota sugestivas de disbiose, como aumento no *Streptococcus* e redução no *Faecalibacterium*, *Blautia* e na alfa-diversidade bacteriana em cães.

Referências Bibliográficas: ALSHAWAQFEH, M. K. *et al.* A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. **FEMS microbiology ecology**, v. 93, n. 11, p. 136-146, 2017. Association of American Feed Control Officials, 2016. Dog and Cat Nutrient Profiles. Official Publications of the Association of American Feed Control Officials Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA. Association of the Official Analytical Chemists, AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC, Washington, D. C, USA. FEDIAF. The European Pet Food Industry Federation. 2021. Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs. Bruxelas, Belgian: The European Pet Food Industry Federation. FÉLIX, A. P. Biomarkers of gastrointestinal functionality in dogs: A systematic review and meta-analysis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 283, p. 115-133, 2022. MORI, A. *et al.* Comparison of the effects of four commercially available prescription diet regimens on the fecal microbiome in healthy dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 81, p. 1783-1790, 2019. PILLA, R; SUCHODOLSKI, J. S. The gut microbiome of dogs and cats, and the influence of diet. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 51, n.3, p. 605-21, 2021.